

Патогенетическое значение нейропептидов и белков факторов роста в развитии воспаления и зуда у больных распространенными дерматозами

В.В. Чикин, С.В. Ротанов, Р.Ф. Хайруллин, Л.Ф. Знаменская, И.И. Вахитова, Л.А. Иноятова

ФГБУ «Государственный научный центр дерматовенерологии и косметологии» Минздрава России
107076, Москва, ул. Короленко, д. 3, стр. 6.

Цель. Определить значение нейропептидов и белков факторов роста в развитии воспаления и зуда у больных atopическим дерматитом и псориазом.

Материал и методы. Обследованы 13 больных atopическим дерматитом, 28 больных псориазом и 11 здоровых добровольцев. Степень тяжести и распространенности поражения кожи у больных atopическим дерматитом оценивали с помощью индекса SCORAD, у больных псориазом — с помощью индекса PASI. Степень выраженности зуда оценивали с применением визуальной аналоговой шкалы. Методом иммуноферментного анализа в сыворотке крови обследованных определяли содержание нейропептидов: субстанции P и пептида, связанного с геном кальцитонина, а также фактора роста нервов, эпидермального фактора роста амфирегулина и фактора редукции нервов семафорина-3А.

Результаты. У больных atopическим дерматитом обнаружено статистически значимое повышение содержания фактора роста нервов в сыворотке крови ($91,37 \pm 16,39$ пг/мл) по сравнению с группой контроля ($10,68 \pm 8,37$ пг/мл; $p < 0,05$) и повышение уровня амфирегулина ($46,09 \pm 5,22$ пг/мл) по сравнению с контролем ($10,21 \pm 2,10$; $p < 0,05$). Выявлена положительная корреляционная связь между уровнем фактора роста нервов и показателем SCORAD.

Заключение. Полученные данные свидетельствуют об участии фактора роста нервов и амфирегулина в патогенезе atopического дерматита.

Ключевые слова: атопический дерматит, псориаз, нейропептиды, нейротрофины, фактор роста нервов, субстанция P, пептид, связанный с геном кальцитонина.

Контактная информация: chikin@cnikvi.ru. Вестник дерматологии и венерологии 2013; (6): 54—58.

Pathogenic value of neuropeptides and growth factor proteins for the development of inflammation and itching in patients with prevalent dermatoses

V.V. Chikin, S.V. Rotanov, R.F. Khairullin, L.F. Znamenskaya, I.I. Vakhitova, L.A. Inoyatova

State Research Center of Dermatovenereology and Cosmetology, Ministry of Healthcare of the Russian Federation
Korolenko str., 3, bldg 6, Moscow, 107076, Russia

Goal. To determine the value of neuropeptides and growth factor proteins for the development of inflammation and itching in patients with atopic dermatitis and psoriasis.

Materials and methods. There was a study of 13 patients with atopic dermatitis, 28 patients with psoriasis and eleven healthy volunteers. The severity and prevalence of the skin lesion in patients with atopic dermatitis was compared using the SCORAD score, and in psoriatic patients — using the PASI index. The extent of itching was assessed using a visual analog scale. The level of neuropeptides in blood serum of the subjects was determined using the enzyme-linked immunoelectrodiffusion assay: substance P and calcitonin gene-related peptide as well as nerve growth factor, amphiregulin, an epidermal growth factor, and semaphorin 3A, a nerve repulsion factor.

Results. A statistically significant increase in the level of nerve growth factors in blood serum of patients with atopic dermatitis was observed (91.37 ± 16.39 pg/mL) vs. the control group (10.68 ± 8.37 pg/mL) ($p < 0.05$) as well as increased level of amphiregulin (46.09 ± 5.22 pg/mL) vs. the control group (10.21 ± 2.10) ($p < 0.05$). A positive correlation between the level of the nerve growth factor and SCORAD score was revealed.

Conclusion. The results obtained confirm that nerve growth factors and amphiregulin are involved in the pathogenesis of atopic dermatitis.

Key words: atopic dermatitis, psoriasis, neuropeptides, neurotrophins, nerve growth factors, substance P, calcitonin gene-related peptide.

Corresponding author: chikin@cnikvi.ru. Vestnik Dermatologii i Venerologii 2013; 6: 54—58.

■ Наиболее распространенными хроническими воспалительными заболеваниями кожи являются атопический дерматит и псориаз, которые существенно различаются по механизмам развития и клиническим проявлениям. Считается, что развитие и течение воспалительных реакций находятся под влиянием нервной системы, которая осуществляет контроль посредством нейромедиаторов — нейропептидов и нейротрофинов [1].

Нейротрофины представляют собой секретируемые белки, которые поддерживают жизнеспособность нейронов, стимулируют их активность и развитие, т. е. являются факторами роста [2]. Наиболее известным нейротрофином является фактор роста нервов.

Нейропептиды — биологически активные вещества, которые имеют в своем составе от 2 до 50—60 аминокислотных остатков, образуются преимущественно в центральной или периферической нервной системе

и способны влиять на ее функции; к ним относятся субстанция P, пептид, связанный с геном кальцитонина (CGRP), серотонин и многие другие вещества.

Нейропептиды, как и нейротрофины, не только присутствуют в ткани нервной системы, но также определяются в других органах, в частности в коже [3]. Эти биологически активные вещества стимулируют синтез и выделение многих провоспалительных цитокинов из тучных клеток, лимфоцитов, дендритных клеток, фибробластов и кератиноцитов, индуцируют экспрессию молекул межклеточной адгезии на эндотелиоцитах и усиливают пролиферацию кератиноцитов [4]. Нейротрофины стимулируют разрастание нервных волокон, в том числе воспринимающих прuritогенные стимулы, с чем связывается их участие в развитии и поддержании зуда [5].

Выраженность этого эффекта нейротрофинов может зависеть от других биологически активных ве-

ществ. Фактор роста амфигулины, как фактор роста нервов, способствует росту нервных волокон [6]. Противоположный эффект дает семафорин-3А, прекращающий рост нервных волокон [7, 8].

Показано, что нейротрофины и нейропептиды могут принимать участие в развитии воспалительной реакции и зуда при атопическом дерматите [9, 10]. Эти же вещества могут влиять на формирование воспаления и зуда у больных псориазом [11—13]. Участие нейропептидов и нейротрофинов в развитии воспалительной реакции и зуда позволяет рассматривать их как потенциальные мишени для терапевтического воздействия.

В то же время имеющиеся данные о корреляции между уровнем нейропептидов и нейротрофинов и степенью тяжести хронических воспалительных заболеваний кожи противоречивы. У больных атопическим дерматитом выявляли повышение уровня фактора роста нервов, субстанции Р и CGRP в крови [9, 14—16]. М. Toyoda и соавт. (2002) обнаружили у больных атопическим дерматитом положительную корреляцию между концентрацией этих веществ в сыворотке крови и степенью тяжести болезни, что позволило сделать предположение о возможности использования показателя содержания фактора роста нервов и субстанции Р в крови как маркера тяжести атопического дерматита [15].

Однако другие авторы не обнаружили изменений содержания в крови фактора роста нервов у больных атопическим дерматитом [17, 18]. Более того, А. Рароіи и соавт. (2011) при обследовании пациентов с атопическим дерматитом выявили снижение уровня этого нейротрофина в сыворотке крови [19].

В связи с противоречивостью имеющихся данных о значимости уровня нейропептидов и нейротрофинов в крови как маркера активности хронических воспалительных заболеваний кожи было проведено исследование содержания нейропептидов и нейротрофинов в сыворотке крови больных атопическим дерматитом и псориазом и определение связи между уровнем этих веществ в крови и степенью тяжести заболевания кожи.

Целью работы стало определение значения нейропептидов и белков факторов роста в развитии воспаления и зуда у больных атопическим дерматитом и псориазом.

Материал и методы

В исследование включены 13 больных атопическим дерматитом и 28 больных вульгарным псориазом.

Среди 13 больных атопическим дерматитом было 7 мужчин и 6 женщин в возрасте от 14 лет до 41 года (средний возраст $26,08 \pm 2,40$ года). Среди 28 больных псориазом было 20 мужчин и 8 женщин в возрасте от 19 до 73 лет (средний возраст $41,43 \pm 2,65$ года).

У 5 из 28 пациентов поражение кожи сопровождалось псориатическим артритом.

Степень тяжести и распространенности кожного псориатического процесса оценивали по индексу PASI (Psoriasis area and severity index) с учетом выраженности эритемы, инфильтрации и шелушения, а также площади поражения кожи. Степень тяжести и распространенности поражения кожи у больных атопическим дерматитом оценивали с помощью индекса SCORAD (Severity scoring of atopic dermatitis). Выраженность зуда у обследованных больных определяли с помощью визуальной аналоговой шкалы и оценивали в баллах от 0 до 10.

Контрольную группу составили 11 здоровых добровольцев.

Методом иммуноферментного анализа (ИФА) у всех больных атопическим дерматитом и псориазом определяли в сыворотке крови содержание субстанции Р, CGRP, фактора роста нервов, амфигулина и семафорина-3А.

Для определения концентрации амфигулина, семафорина-3А, пептида, связанного с геном кальцитонина, субстанции Р использовали наборы реагентов для ИФА производства фирмы Cusabio Biotech Co., Ltd (Китай) (Cat. № CSB-E04496h, CSB-E15913h, CSB-E08210h и CSB-E08357h соответственно), согласно инструкции производителя.

Концентрацию фактора роста нервов определяли с помощью набора реагентов для ИФА производства фирмы RayBiotech, Inc (США) (Cat. № ELH-beta-NGF-001) в соответствии с инструкцией производителя.

Измерение концентрации исследуемых веществ осуществляли на автоматическом спектрофотометре Multiskan Ascent фирмы Thermo Labsystems Oy (Финляндия) с построением калибровочных кривых с применением программного обеспечения к указанному прибору. Промывание иммунологических планшетов в процессе ИФА осуществляли в автоматическом режиме с помощью аппарата для автоматического промывания иммунологических планшетов марки PW40 производства фирмы Bio-Rad (США). Инкубирование иммунологических планшетов проводили в термощейкере Elmi ST-3 производства фирмы ELMi (Латвия). Дозирование образцов и растворов проводили одно- и восьмиканальными пипеточными дозаторами модели «Колор» производства фирмы «Ленпипет» (Россия) с погрешностью измерения не более 3%.

С целью оценки статистической значимости различий между группами больных атопическим дерматитом, псориазом и контрольной группой здоровых добровольцев выполняли однофакторный дисперсионный анализ с последующим использованием критерия Стьюдента с поправкой Бонферрони для множественных сравнений. Для выявления связей между изучавшимися клиническими и лабораторными

ми показателями в группах обследованных больных использовали ранговый коэффициент корреляции Спирмена.

Статистическая обработка результатов исследования проводилась с помощью программы SigmaStat 3.1 для ЭВМ. Полученные результаты представляли в виде средней арифметической величины и ее средней ошибки ($M \pm m$). Различия считали статистически значимыми при $p < 0,05$.

Результаты

При обследовании 13 больных atopическим дерматитом индекс SCORAD составил от 37,4 до 82,7 (в среднем $58,5 \pm 3,4$). При оценке степени тяжести и распространенности поражения кожи у 28 обследованных больных псориазом выявлено, что индекс PASI составлял от 14,4 до 68,0 (в среднем $30,41 \pm 5,31$), т. е. все пациенты страдали среднетяжелой (12 человек) и тяжелой (17 человек) формами псориаза.

У всех больных atopическим дерматитом и псориазом отмечался зуд разной степени выраженности. Интенсивность зуда у больных atopическим дерматитом при определении показателя по визуальной аналоговой шкале варьировала от 4 до 10 баллов (средний $7,84 \pm 0,3$ балла), а у пациентов с псориазом — от 2 до 10 баллов (средний $5,64 \pm 0,4$ балла). Сравнение средних показателей интенсивности зуда при atopическом дерматите и псориазе показало, что больные atopическим дерматитом указывали на существенно более выраженную интенсивность зуда, причем различия были статистически значимыми ($p < 0,05$).

Методом ИФА был определен уровень нейротропических и белков факторов роста в сыворотке крови больных atopическим дерматитом и псориазом (см. табл.).

У больных atopическим дерматитом выявлено статистически значимое увеличение содержания в крови фактора роста нервов ($91,37 \pm 16,39$ пг/мл) по сравнению с контрольной группой ($10,68 \pm 8,37$ пг/мл; $p < 0,05$) и группой больных псориазом ($44,29 \pm 7,52$ пг/мл). У наблюдавшихся больных atopическим дерматитом было

также выявлено повышение концентрации в крови амфигулина ($46,09 \pm 5,22$ пг/мл) по сравнению с группой контроля ($10,21 \pm 2,10$ пг/мл). Различия в содержании нейротропических субстанции Р и CGRP, а также фактора редукции нервов семафорина-3А между группой больных atopическим дерматитом и контрольной группой оказались недостоверными.

С помощью корреляционного анализа выявлена положительная корреляция между содержанием в крови фактора роста нервов и показателем SCORAD. Корреляция между уровнем в крови фактора роста нервов и выраженностью зуда у больных atopическим дерматитом была слабой ($p = 0,12$). Корреляции между показателями тяжести atopического дерматита (SCORAD и степень интенсивности зуда) и содержанием в крови субстанции Р, CGRP, амфигулина и семафорина-3А не выявлено.

В группе больных псориазом при сравнении уровня фактора роста нервов, субстанции Р, CGRP, амфигулина и семафорина-3А в сыворотке крови с соответствующими показателями в контрольной группе статистически значимых различий также не выявлено.

У больных псориазом корреляции между показателем PASI и содержанием в крови фактора роста нервов, субстанции Р, CGRP, амфигулина и семафорина-3А, а также между интенсивностью зуда и уровнем в крови этих веществ в группе больных псориазом не установлено.

Обсуждение

Биологическое значение фактора роста нервов заключается в стимуляции разрастания нервных волокон, в том числе С-волокон, воспринимающих прuritогенные стимулы [20, 21]. Помимо нейротрофной функции фактор роста нервов оказывает провоспалительное действие и принимает участие в развитии воспалительной реакции в коже [22—25].

Полученные данные о достоверном повышении уровня одного из нейротрофинов — фактора роста нервов в крови больных atopическим дерматитом, выявленная положительная корреляционная связь меж-

Таблица

Содержание нейротропических и белков факторов роста в сыворотке крови обследованных лиц

Группа обследованных лиц	NGF, пг/мл	SP, пг/мл	KAF, пг/мл	CGRP, пг/мл	Sema-3A, нг/мл
Больные atopическим дерматитом ($n = 13$)	$91,37 \pm 16,39^{***}$	$12,82 \pm 2,67$	$46,09 \pm 5,22^*$	$1,83 \pm 0,24$	$0,10 \pm 0,03$
Больные псориазом ($n = 28$)	$44,29 \pm 7,52$	$15,72 \pm 3,17$	$19,15 \pm 8,05$	$2,07 \pm 0,93$	$0,12 \pm 0,02$
Контрольная группа ($n = 11$)	$10,68 \pm 8,37$	$14,10 \pm 1,99$	$10,21 \pm 2,10$	$0,85 \pm 0,48$	$0,12 \pm 0,02$

Примечание. Звездочками отмечены статистически значимые различия ($p < 0,05$) с контрольной группой (одна звездочка) и с группой больных псориазом (две звездочки). NGF — фактор роста нервов; SP — субстанция Р; KAF (keratinocyte autocrine factor) — амфигулин; Sema-3A — семафорин-3А.

ду повышением содержания в крови этого нейротрофина и тяжестью atopического дерматита указывают на его участие в развитии воспаления и зуда.

Проведенные исследования выявили повышение содержания в крови больных atopическим дерматитом амфигулина — белка фактора роста, который, как и фактор роста нервов, принимает участие в стимуляции разрастания нервных С-волокон, что приводит к снижению порога чувствительности к пруритогенным стимулам. Следовательно, амфигулин и фактор роста нервов принимают участие в формировании механизмов зуда у больных хроническими воспалительными дерматозами.

Заключение

Таким образом, повышение содержания в крови больных atopическим дерматитом фактора роста нервов и амфигулина, а также выявленная положительная корреляционная связь между уровнем фактора роста нервов в крови и клиническим показателем степени тяжести заболевания (SCORAD) указывают на патогенетическую значимость этих белков.

У больных псориазом связь между тяжестью заболевания (PASI) и уровнем нейротрофинов: субстанции Р и CGRP, а также уровнем фактора роста нервов, амфигулина и семафорина-3А в крови не обнаружена. ■

Литература

1. Franco R., Pacheco R., Lluís C. et al. The emergence of neurotransmitters as immune modulators. *Trends Immunol* 2007; 28 (9): 400—406.
2. Botchkarev V.A., Yaar M., Peters E.M. et al. Neurotrophins in skin biology and pathology. *J Invest Dermatol* 2006; 126: 1719—1727.
3. Luger T.A. Neuromediators — a crucial component of the skin immune system. *J Dermatol Sci* 2002; 30 (2): 87—93.
4. Reich A., Orda A., Wiśnicka B., Szepietowski J.C. Plasma neuropeptides and perception of pruritus in psoriasis. *Acta Dermatol Venereol* 2007; 87 (4): 299—304.
5. Tanaka A., Matsuda H. Expression of nerve growth factor in itchy skin of atopic NC/NgaTnd Mice. *J Vet Med Sci* 2005; 67 (9): 915—919.
6. Nilsson A., Kanje M. Amphiregulin acts as an autocrine survival factor for adult sensory neurons. *Neuroreport* 2005; 16: 213—218.
7. Tominaga M., Ogawa H., Takamori K. Decreased production of semaphorin 3A in the lesional skin of atopical dermatitis. *Br J Dermatol* 2008; 158: 842—844.
8. Dontchev V.D., Letourneau P.C. Nerve growth factor and semaphorin 3A signaling pathways interact in regulating sensory neuronal growth cone motility. *J Neurosci* 2002; 22: 6659—6669.
9. Hodeib A., El-Samad Z.A., Hanafy H. et al. Nerve growth factor, neuropeptides and cutaneous nerves in atopical dermatitis. *Indian J Dermatol* 2010; 55 (2): 135—139.
10. Suarez A.L., Feramisco J.D., Koo J., Steinhoff M. Psychoneuroimmunology of psychological stress and atopical dermatitis: pathophysiologic and therapeutic updates. *Acta Derm Venereol* 2012; 91 (1): 7—15.
11. Chang S.-E., Han S.-S., Jung H.-J., Choi J.-H. Neuropeptides and their receptors in psoriatic skin in relation to pruritus. *Br J Dermatol* 2007; 156 (6): 1272—1277.
12. Reich A., Orda A., Wiśnicka B., Szepietowski J.C. Plasma concentration of selected neuropeptides in patients suffering from psoriasis. *Exp Dermatol* 2007; 16 (5): 421—428.
13. Raychaudhuri S.P., Raychaudhuri S.K. Role of NGF and neurogenic inflammation in the pathogenesis of psoriasis. *Prog Brain Res* 2004; 146: 433—437.
14. Groneberg D.A., Serowka F., Peckenschneider N. et al. Gene expression and regulation of nerve growth factor in atopical dermatitis mast cells and the human mast cell line-1. *J Neuroimmunol* 2005; 161: 87—92.
15. Toyoda M., Nakamura M., Makino T. et al. Nerve growth factor and substance P are useful plasma markers of disease activity in atopical dermatitis. *Br J Dermatol* 2002; 147: 71—79.
16. Wang I.J., Hsieh W.S., Guo Y.L. et al. Neuro-mediators as predictors of paediatric atopical dermatitis. *Clin Exp Allergy* 2008; 38 (8): 1302—1308.
17. Lang U.E., Piche E., Juenger M. et al. Schlattmann Nerve growth factor serum levels in patients with acute forms of atopical dermatitis. *Dermatol Psychosom* 2002; 3: 30—33.
18. Schulte-Herbrüggen O., Fölster-Holst R., von Elstermann M. et al. Clinical relevance of nerve growth factor serum level in patients with atopical dermatitis and psoriasis. *Int Arch Allergy Immunol* 2007; 144: 211—216.
19. Papoiu A.D., Wang H., Nattkemper L. et al. A study of serum concentrations and dermal levels of NGF in atopical dermatitis and healthy subjects. *Neuropeptides* 2011; 45 (6): 417—422.
20. Albers K.M., Wright D.E., Davis B.M. Overexpression of nerve growth factor in epidermis of transgenic mice causes hypertrophy of the peripheral nervous system. *J Neurosci* 1994; 14: 1422—1432.
21. Crowley C., Spencer S.D., Nishimura M.C. et al. Mice lacking nerve growth factor display perinatal loss of sensory and sympathetic neurons yet develop basal forebrain cholinergic neurons. *Cell* 1994; 76: 1001—1011.
22. Lotti T., Bianchi B., Panconesi E. Neuropeptides and skin disorders. The new frontiers of neuro-endocrine-cutaneous immunology. *Int J Dermatol* 1999; 1999; 38 (9): 673—675.
23. Steinhoff M., Stander S., Seeliger S. et al. Modern aspects of cutaneous neurogenic inflammation. *Arch Dermatol* 2003; 39 (11): 1479—1488.
24. Peters E.M., Handjiski B., Kuhlmei A. et al. Neurogenic inflammation in stress-induced termination of murine hair growth is promoted by nerve growth factor. *Am J Pathol* 2004; 165: 259—271.
25. Peters E.M., Raap U., Welker P. et al. Neurotrophins act as neuroendocrine regulators of skin homeostasis in health and disease. *Horm Metab Res* 2007; 39: 110—124.

об авторах:

В.В. Чикин — к.м.н., старший научный сотрудник отдела дерматологии ФГБУ «ГНЦДК» Минздрава России, Москва

С.В. Ротанов — д.м.н., доцент, врач клинической лабораторной диагностики серологической лаборатории Лабораторного центра ФГБУ «ГНЦДК» Минздрава России, Москва

Р.Ф. Хайруллин — старший научный сотрудник отдела лабораторной диагностики ИППП и дерматозов ФГБУ «ГНЦДК» Минздрава России, Москва

Л.Ф. Знаменская — к.м.н., зав. отделом дерматологии ФГБУ «ГНЦДК» Минздрава России, Москва

И.И. Вахитова — врач-дерматовенеролог отделения клинической дерматологии ФГБУ «ГНЦДК» Минздрава России, Москва

Л.А. Иноятова — аспирант ФГБУ «ГНЦДК» Минздрава России, Москва